

УДК 577.152.311: 577.117.3

## ХЛОРОФИЛЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ЯРУСОВ ШИРОКОЛИСТВЕННОГО ЛЕСА

© 2016 г. А. А. Сиваш, Р. Н. Фомишина,  
Т. О. Захарова, Е. К. Золотарёва

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного  
Национальной академии наук Украины  
(Киев, Украина)*

Изучали активность хлорофиллазы (Хлазы, хлорофилл – хлорофиллид – гидролаза 3.1.1.14), содержание пигментов и их соотношение у лесных растений, которые росли в естественных условиях широколиственного леса. В качестве объекта исследований растений нижнего яруса, которые росли под пологом леса, были выбраны сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria* L.), купена душистая (*Polygonatum odoratum* L.), купена многоцветковая (*Polygonatum multiflorum* L. All.) и копытень (*Asarum europaeum* L.). Изучали также следующие виды кустарников: бересклет бородавчатый (*Euonymus verrucosa* Scop.), бересклет европейский (*Euonymus europaea* L.), черемуху обыкновенную (*Rododendron avium* Mill) и лещину обыкновенную (*Corylus avellana* L.). Для сравнения указанные показатели определяли также у растений верхнего яруса – светлюбивого вида клена полевого (*Acer campestre* L.). Полученные данные подтверждают общую тенденцию повышения содержания хлорофилла *b* в ответ на снижение доступного для растений света и показывают, что Хлазная активность играет различную роль в адаптационных процессах в зависимости от вида растений. Высокая активность Хлазы в большинстве исследуемых видов, занимающих средний и верхний ярус лесного ценоза, свидетельствует об активном участии фермента в метаболизме хлорофилла и его роли в адаптации к различным световым режимам. В то же время у некоторых растений нижнего яруса Хлазная активность оставалась невысокой в течение вегетации, что свидетельствует о низкой динамике катаболизма хлорофилла у этих видов в условиях высокой затененности.

**Ключевые слова:** хлорофилл, хлорофиллаза, каротиноиды, светлюбивые растения, теневыносливые растения, фотосинтез

В густом лесу количество света, поступающего к растениям на разных ярусах, может изменяться 50-кратно (Valladares, 2003; Anten, 2005). Адаптация лесных растений к контрастным световым условиям обеспечивается за счет значительных морфологических и физиологических различий их листьев. Растения, эволюционно приспособленные к высокой (светлюбивые, гелиофиты) или низкой (тенелюбивые, сциофиты) освещенности, отличаются по общей площади и толщине листьев, количеству хлоропластов в листьях, содержанию и составу пигментов (Lichtenthaler et al., 2007). Изучение особенностей пигментного аппарата растений с разной толерантностью к свету имеет большое

значение для познания механизмов их адаптации к условиям окружающей среды, а также для понимания эволюционных путей становления фотосинтетического аппарата растений (Hikosaka, 2005; Niinemets, 2007; Фомишина та ін., 2009).

Благодаря особенностям пигментного аппарата, листья, адаптированные к интенсивному освещению, имеют, как правило, более высокий фотосинтетический потенциал, способны рассеивать большую часть световой энергии и устойчивы к фотоингибированию (Murchie, Horton, 1997; Meir et al., 2002; Lichtenthaler et al., 2007). Это обеспечивается работой ксантофиллового цикла, локализованного в светособирающем комплексе (ССК) фотосистемы II (ФС II). Световой режим существенно влияет на содержание и соотношение хлорофиллов (Хл) *a/b* и каротиноидов (Кар), что отражает изменение в биосинтезе и накоплении ССК II

## ХЛОРОФИЛЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ

(Navaux et al., 2000). Отмечено, что интенсивность реакций взаимопревращения ксантофиллов коррелирует со степенью светолюбивости растений. Содержание Кар у растений, произрастающих при высокой интенсивности света, повышается, что связывают с их фотозащитной функцией. По мере повышения интенсивности ФАР закономерно снижается соотношение хлорофиллов и каротиноидов (Bailey et al., 2004; Lichtenthaler et al., 2007).

В динамической регуляции содержания пигментов при адаптации к внешним условиям принимает участие целый ряд ферментов, в том числе хлорофиллаза (Хлаза, хлорофилл – хлорофиллид – гидролаза 3.1.1.14), функцией которой является катализ начального этапа деградации Хл с образованием хлорофиллида (Arkus et al., 2005; Сиваш, Золотарева, 2013). Несмотря на то, что гидролитические свойства Хлазы широко изучены *in vitro*, ее роль и активность действие *in vivo* остается неясной. Установлено, что в определенные периоды вегетации растений Хлазная активность повышается, что может быть связано как с накоплением, так и с катаболизмом хлорофилла (Banas et al., 2011). Наши предыдущие исследования на многих объектах с применением различных методов позволили выявить несколько форм Хлазы, которые отличаются степенью связи с фотосинтетическими мембранами (Судьина та ін., 1988). Активность фермента зависела от его фракционной принадлежности, была невысокой в мембранносвязанном состоянии и повышалась при переходе в растворимую форму (Судьина та ін., 1988).

Хлазная активность листьев растений разных экотипов изучена недостаточно (Todorov et al., 2003; Sytykiewicz et al., 2013). До настоящего времени остается мало изученной зависимость активности Хлазы от условий освещения растений. Целью настоящей работы было сравнительное изучение активности Хлазы, содержания и соотношения пигментов у растений разных ярусов широколиственного леса.

### МЕТОДИКА

Листья собирали на территории ботанического заказника «Лесники» в окрестностях Киева (30°32 'с. д. и 50°17 'с. ш.) в пределах кленово-ясенево-ольхового леса (Дідух та ін., 2000) в середине лета 2010-2013 гг.

В исследованиях использовались растения нижнего яруса, растущие под пологом леса: сныть (*Aegopodium podagraria* L.), купена ду-

шистая (*Polygonatum odoratum* L.), купена многоцветковая (*Polygonatum multiflorum* L. All.) и копытень (*Asarum europaeum* L.). Плотность потока фотонов на поверхности листьев, определенная в природных условиях с помощью прибора LI-250 light meter (фирма "LI-COR", США), составляла в середине дня 18-21 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>.

Среди растений, нуждающихся в значительном уровне освещения, исследовались кустарники бересклет бородавчатый (*Euonymus verrucosa* Scop.), бересклет европейский (*Euonymus europaea* L.), черемуха (*Padus avium* Mill.) и лещина (*Corylus avellana* L.). Плотность потока фотонов на поверхности в полдень составляла 150-220 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>.

В качестве объекта исследования растительного верхнего яруса был выбран светолюбивый вид – клен полевой (*Acer campestre* L.). Верхние листья брали с ветвей на верхушках молодых деревьев на высоте более чем 4 м, тогда как нижние листья – с ветвей, расположенных на высоте ниже 1 м. Плотность потока фотонов на поверхности листьев определялась в природных условиях с помощью прибора LI-250 light meter и составляла у деревьев *A. campestre* L.  $416 \pm 28$  мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> на верхушке кроны и  $21,3 \pm 1,7$  мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> в ее нижней части, тогда как при полном освещении этот показатель достигал  $1133 \pm 53$  мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Листья деревьев для анализа отбирали в конце апреля, в середине и конце мая и в середине июля.

Пигменты из листьев экстрагировали ацетоном с добавлением СаСО<sub>3</sub> и разделяли методом бумажной хроматографии с использованием смеси гексана и этанола (16: 1 по объему). Пигментные полосы (лютеин, виолаксантин, неоксантин) экстрагировали из хроматограмм 100% этанолом, β-каротин и хлорофиллы – 100% ацетоном.

Общее содержание хлорофиллов (Хл) и каротиноидов (Кар) определяли в ацетоновом экстракте листьев на спектрофотометре СФ-46, как описано ранее (Фомішина та ін., 2009), используя коэффициенты экстинкции, приведенные в работе Lichtenthaler (1987). Содержание пигментов относили к единице сухой массы.

Активность Хлазы определяли в гомогенате листьев в 40% ацетоне (рН 7,17) по методу Судьиной (Фомішина та ін., 2009) и рассчитывали по разнице в количестве Хл *a* в контроле (субстрат без фермента) и опыте (с ферментом). Субстратом служил ацетоновый экстракт хлорофилла из листьев крапивы.

Таблица 1. Содержание пигментов (мг/г сухой массы), их соотношение и активность Хлазы (мг Хл/г сухой массы) в листьях лесных растений нижнего яруса

Вид	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл <i>a + b</i>	Кар	Хл <i>a/b</i>	Кар/Хл	Активность Хлазы
<i>A. podagraria</i> (I)	11,0±0,54	5,30±0,24	16,29±0,98	2,56±0,13	2,07	0,157	0,879± 0,45
<i>A. podagraria</i> (II)	12,5±0,62	5,87±0,26	18,34±0,94	2,90±0,13	2,12	0,158	0,991± 0,54
<i>P. odoratum</i> (I)	7,40±0,33	3,10±0,17	10,50±0,61	2,04±0,11	2,38	0,194	1,330± 0,57
<i>P. odoratum</i> (II)	9,51±0,36	3,97±0,20	13,48±0,73	2,67±0,24	2,39	0,198	1,302± 0,58
<i>P. multiflorum</i> (I)	9,16±0,38	4,08±0,21	13,24±0,65	2,19±0,21	2,24	0,165	0,976± 0,45
<i>P. multiflorum</i> (II)	9,88±0,42	4,36±0,22	14,24±0,71	2,79±0,23	2,27	0,195	0,904± 0,42
<i>As. europaeum</i> (I)	8,39±0,39	3,89±0,37	12,28±0,61	2,32±0,22	2,16	0,189	0,556± 0,20
<i>As. europaeum</i> (II)	10,6±0,51	5,11±0,27	15,72±0,78	2,80±0,25	2,08	0,178	0,588± 0,31

Примечание. (I) – растения собраны 09.07; (II) – растения собраны 31.07.

Исследования проводили в 3-4 кратной повторности, результаты обработаны статистически, стандартные отклонения не превышали 5%. Статистическую обработку данных выполняли с помощью программ Microsoft Office Excel и Statistica 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Растения нижнего яруса леса

Исследовали тенелюбивые растения, растущие под пологом леса: сныть (*Aegopodium podagraria* L.), купена душистая (*Polygonatum odoratum* L.), купена многоцветковая (*Polygonatum multiflorum* L. All.) и копытень (*Asarum europaeum* L.), широко распространенные в лесной и лесостепной полосе и произрастающие под тенистым навесом леса, закрывающим от прямых солнечных лучей. Образцы для анализа отбирали в середине лета с интервалом в 3 недели. Как видно из данных табл. 1, общее количество пигментов у всех изученных видов было высоким, наивысшее содержание зеленых пигментов зарегистрировано у *A. podagraria*. За 3 недели между первым и вторым анализами общее содержание Хл в листьях всех изученных видов возрастало: на 28% – у *P. odoratum* и *As. europaeum*, у *P. multiflorum* – на 7,5%, в у *A. podagraria* – на 12%. Примерно в той же степени возросло за этот период и содержание Кар у всех изученных видов, за исключением *P. multiflorum*. Содержание Кар в листьях этого вида увеличилось на 27%, что значительно больше, чем изменение содержа-

ния Хл. Возрастание содержания зеленых пигментов за 3 недели вегетации, вероятно, связано с уменьшением поступления солнечной радиации к растениям нижнего яруса из-за разрастания поверхности листьев верхних ярусов леса. С этим же связано и увеличение содержания Кар, которые при низкой освещенности выполняют функцию дополнительных светособирающих пигментов, тогда как при высокой инсоляции – в основном фотозащитную роль (Navaux et al., 2000; Bailey et al., 2004). Результаты, представленные в табл. 1, показывают что общее содержание Хл и Кар у *A. podagraria* и *P. odoratum* возрастало за 3 недели вегетации в одинаковой степени, тогда как у *P. multiflorum* относительное увеличение содержания Кар было выше, чем относительное увеличения количества Хл (соотношение Кар/Хл заметно возросло). В этих условиях относительное содержание Кар у *As. europaeum*, напротив, снижалось.

Адаптивным ответом растений на снижение освещенности является, как известно, увеличение светособирающей антенны и, накопление необходимых для этого пигментов, в частности, Хл *b*. Из данных табл. 1 видно, что содержание Хл *b* возрастало особенно сильно у копытня – на 31%. У этого вида относительное увеличение содержания Хл *b* за три недели вегетации превышало относительное возрастание количества Хл *a*, тогда как у остальных изученных видов содержание как Хл *b*, так и Хл *a* возрастало за этот период в одинаковой степени.

## ХЛОРОФИЛЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ

**Таблица 2. Содержание и соотношение пигментов (мг/г сухой массы), активность Хлазы (мг Хл/г сухой массы) в листьях кустарников**

Объект	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл <i>a + b</i>	Кар	Хл <i>a/b</i>	Кар/Хл	Активность Хлазы
<i>E. verrucosus</i>	10,2±0,6	5,44±0,32	15,7±0,9	3,04±0,33	1,90	0,193	0,91±0,37
<i>E. europaeus</i>	10,6±0,5	6,61±0,30	17,2±0,9	2,58±0,33	1,60	0,150	0,95±0,46
<i>P. padus</i>	10,9±0,5	4,74±0,23	15,7±0,8	2,82±0,33	2,30	0,180	0,88±0,47
<i>C. avellana</i>	11,0±0,6	4,82±0,26	15,9±0,8	3,09±0,33	2,30	0,194	0,49±0,20

**Таблица 3. Динамика содержания пигментов (мг/г сухой массы), их соотношение и активность Хлазы (мг Хл/г сухой массы) в листьях клена полевого**

Дата анализа	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл <i>a + b</i>	Кар	Хл <i>a/b</i>	Кар/Хл	Активность Хлазы
26.04	3,31±0,13	1,25±0,62	4,56±0,33	1,44±0,11	2,65	0,314	1,70±0,83
17.05	5,12±0,25	1,66±0,81	6,78±0,33	1,66±0,08	3,10	0,244	1,09±0,52
24.05	7,29±0,38	2,55±0,13	9,84±0,33	1,78±0,09	2,85	0,180	0,65±0,31
21.07	6,55±0,30	2,55±0,14	9,10±0,33	1,96±0,11	2,57	0,215	0,83±0,39

Активность Хлазы в листьях *P. odoratum* и *P. multiflorum* была довольно высокой и несколько снижалась за три недели между первым и вторым анализами. Хлазная активность гомогенатов листьев *A. podagraria* и *As. europaeum*, напротив, за этот период возрастала на 12 и 6%, соответственно. Таким образом, общую для всех изученных видов нижнего яруса тенденцию к накоплению светособирающих пигментов в ответ на возрастающее затенение можно объяснить снижением Хлазной активности лишь для двух видов – *P. odoratum* и *P. multiflorum*.

Соотношение Хл *a/b* у всех изученных видов было низким, что характерно для тенелюбивых растений, и не превышало 2,4. Для видов *A. podagraria* и *As. europaeum* это соотношение составляло 2,07-2,15 вследствие значительного накопления Хл *b*.

Таким образом, фотосинтетический аппарат (ФСА) тенелюбивых растений содержит значительное количество пигментов, позволяющих эффективно использовать кванты рассеянного света. Высокая активность Хлазы связана с обеспечением метаболизма значительного пула Хл. Большинство тенелюбивых растений способны эффективно использовать солнечные пятна, блики, что обуславливает дополнительную динамику метаболизма Хл.

Обращает на себя внимание низкий уровень Хлазной активности гомогената листьев *As. europaeum*, соответствующий 0,556-0,588 мг/г разложенного Хл *a* на г сухой массы, т.е. в 1,5-2 раза ниже, чем в листьях купены и сныти. При этом в ходе трехнедельной адаптации *As. europaeum* к возрастающему затенению значительно увеличивалось содержание Хл *b* и в меньшей степени по сравнению с другими видами содержание Кар.

Копытень относится к феноритмотипу вечнозеленых растений, листья которых после перезимовки активно фотосинтезируют весной и отмирают к середине лета. Мы использовали листья летней генерации растений, с высоким суммарным содержанием зеленых пигментов, варьировавшим в пределах 12,27-15,71 мг/г сухой массы, в зависимости от даты сбора материала. Полученные данные совпадают с результатами ранее проведенных нами вегетационных опытов (свет/тьень) по определению Хлазной активности листьев копытня весенней генерации (Фомішина та ін., 2009).

Следовательно, у копытня активность Хлазы, отвечающей за первую стадию деградации Хл, остается невысокой на всех этапах вегетации, что позволяет сделать вывод о низкой динамике катаболизма Хл у этого вида в условиях высокой затененности. Низкая активность

Хлазы у тенелюбивого *As. europaeum* указывает на участие иных механизмов регуляции захвата энергии ФСА в условиях глубокой тени.

#### **Растения среднего яруса леса**

Результаты, приведенные в табл. 2, показывают, что у обоих видов бересклета содержание зеленых пигментов было высоким, несколько большим у бересклета европейского (15,68 у *E. verrucosa* и 17,30 у *E. europaea* мг/г сухой массы). Следует отметить, что хотя оба вида исследуемых бересклетов относятся к теневыносливым растениям, выбранный для наших опытов бересклет европейский произрастал на низких (более затененных) участках леса, тогда как бересклет бородавчатый – на светлых участках (интенсивность освещения 200-220 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>). Размер листьев бересклета европейского и значительно превосходил размеры листьев бересклета бородавчатого. Соотношение Хл *a/b* у бересклетов, особенно у *E. europaea*, было низким (1,60-1,90), что свидетельствует о преобладающем накоплении Хл *b*. Соотношения Кар/Хл у этих видов растений заметно отличались (0,193 у *E. verrucosa* и 0,150 у *E. europaea*). Следовательно, содержание пигментов и их соотношение зависело от местопроизрастания кустарников.

Активность Хлазы бересклетов была высокой и соответствовала гидролизу 0,91 и 0,95 мг Хл *a* на г сухой массы у *E. verrucosa* и *E. europaea*, соответственно, что может свидетельствовать о значительной роли фермента в метаболизме хлорофилла.

Черемуха также вегетировала на более открытых участках леса. Содержание зеленых пигментов в листьях черемухи высокое (15,68 мг/г сухой массы), главным образом за счет накопления Хл. *a*. Соотношение Хл *a/b* (2,30) значительно превышало показатели бересклета, тогда как соотношение Кар/Хл (0,180) существенно не отличалось. Активность Хлазы черемухи достаточно высокая – 0,88 мг/г разложенного Хл *a* на г сухой массы. У лещины установлено значительное содержание пигментов – 15,86 мг/г сухой массы. Соотношение Хл *a/b* составляло 2,30, соотношение Кар/Хл 0,194. Активность Хлазы в гомогенате листьев лещины была низкой (0,49 мг/г разложенного Хл *a* на г сухой массы) – почти в два раза меньше, чем у других изученных видов кустарников. Ранее было установлено, что низкая активность Хлазы характерна для объектов, фермент у которых находится в мембранносвязанной форме (Судьина та ін., 1988). Гораздо более высокая активность Хлазы у *E. verrucosa*, *E. europaea* и

*P. padus* при столь же высоком содержании пигментов, как и у *C. avellana*, указывает на различие механизмов обновления пигментного фонда ФСА у бересклетов и черемухи, с одной стороны, и лещины, с другой.

Таким образом, у исследованных представителей среднего яруса леса наблюдались отличия в изменении содержания и соотношения пигментов. ФСА этих растений активно реагирует на изменения светового режима, которые неизбежно происходят в природных условиях лесных биоценозов. Известно, что растения, растущие как на свету, так и в тени, имеют тенденцию к более резкому изменению соотношения Хл *a/b*, по сравнению с растениями, распространенными исключительно на свету или только в затененных участках (Бухов, 2004; Oguchi et al., 2005). Растения среднего яруса характеризуются высокой пластичностью пигментного аппарата, что дает им возможность вегетировать как под покровом леса, так и на открытых участках.

#### **Растения верхнего яруса леса**

Для исследования особенностей ФСА светолюбивых растений проводили эксперименты с кленом полевым (*Acer campestre* L.), растущим на открытом участке (плотность светового потока 1500-1900 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>). Изучение динамики хлорофиллазной активности клена показало (табл. 3), что наибольшая активность фермента (1,70-1,09 мг/г разложенного Хл *a* на г сухой массы) наблюдалась у молодых листьев (26.04, 17.05), при активном протекании процессов, связанных с метаболизмом хлорофилла, включая как интенсивный синтез пигмента, так и его гидролиз. Затем, когда накопление хлорофилла замедляется, активность Хлазы постепенно снижается (0,65 мг/г разложенного Хл *a* на г сухой массы) и несколько активизируется в конце июля. Аналогичное изменение хлорофиллазной активности листьев в течение вегетации наблюдалось нами ранее на других объектах (Фомішина та ін., 2009). Установлено, что возрастание хлорофиллазной активности происходит, главным образом, за счет перехода мембранносвязанной формы фермента в более активную слабосвязанную (Судьина та ін., 1988). Соотношение пигментов у клена было высоким и изменялось в зависимости от даты определения (Хл *a/b* – 2,57-3,10; Кар/Хл – 0,180-0,315), что согласуется с общеизвестной тенденцией уменьшения количества светособирающего комплекса и увеличения фотозащитной функции каротиноидов в условиях высокой интенсивности света.

## ХЛОРОФИЛЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ

В целом содержание пигментов у светолюбивого клена значительно ниже, чем у растений среднего яруса (кустарники).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание Хл в фотосинтезирующих клетках зависит от интенсивности и спектрального качества света (Бухов, 2004; Topchiy et al., 2005; Lichtenthaler et al., 2007;) и метаболического состояния растительной клетки (Сивашта и н., 2001; Mukhaylenko et al., 2004). Долгосрочная адаптация растений к изменяющимся световым условиям осуществляется за счет модификации пигментного состава ФСА, размера светособирающих антенн и соотношения фотосистем (Melis, 1991; Murchie, Horton, 1997; Meir et al., 2002). Повышение общего содержания хлорофиллов *a* и *b* при снижении интенсивности освещения рассматривается как адаптивная реакция, поскольку ее результатом является улучшение светособирающих свойств ФСА (Bailey et al., 2004). Анализируя результаты определения пигментного состава и хлорофиллазной активности растений разных ярусов широколиственного леса (табл. 1-3), в первую очередь следует обратить внимание на значительное различие в общем содержании Хл в листьях светолюбивого клена и теневыносливых видов. Относительное количество Хл в листьях трав и кустарников, адаптированных к низкой и средней интенсивности освещения, в два и более раз превосходит этот показатель у светолюбивого клена. Содержание каротиноидов, также входящих в состав светособирающего аппарата хлоропластов, в листьях теневыносливых растений значительно превышало их количество в листьях *A. campestre*. Таким образом, накопление пигментов в листьях лесных растений в целом зависело от уровня освещенности и возрастало в растениях, растущих под пологом леса.

Хорошо установленным фактом является снижение соотношения хлорофилл *a/b* в хлоропластах растений, растущих при низкой интенсивности света, что свидетельствует о более высоком относительном содержании пигмент-связывающих белков ССК II (Leong, Anderson, 1984). Большая по размерам пигментная антенна, характерная для теневых листьев, увеличивает поглощение света и эффективность его использования. Это физиологический адаптивный ответ ФСА на снижение количества солнечных квантов. Кроме того, у растений, произрастающих при высокой интенсивности, наблюдаются большее содержание цитохром *b6/f* комплекса (Leong, Anderson, 1984) и РДФ-карбоксилазы (Bailey et al., 2004, Niinemets and Valladares,

2004), а также высокая активность АТФ-синтазы (de la Torre, Burkey, 1991) и скорость выделения кислорода (Lichtenthaler et al., 2007).

Адаптация растений к уровню освещенности осуществляется за счет динамической вариации содержания и соотношения пигментов, синтез и гидролиз которых катализируются рядом ферментов (Brouwer et al., 2014). Известно несколько причин, обуславливающих превращение пигментов. Прежде всего, пул хлорофилла постоянно обновляется, т.е. происходит распад и синтез пигмента. С другой стороны, несмотря на развитые механизмы защиты от фотоингибирования, инактивация ФСА наблюдается при всех световых режимах и зависит от размера антенны (Vanas et al., 2011). Изменение размера светособирающей антенны предполагает варьирование соотношения Хл *a/b*, чему способствует работа хлорофиллового цикла – системы реакций взаимопревращения хлорофиллов ( $a \leftrightarrow b$ ).

Роль в этих процессах Хлазы, катализирующей гидролиз Хл с образованием водорастворимого хлорофиллида, до настоящего времени установлена не полностью (Todorov et al., 2003; Arkus et al., 2005; Сиваш, Золотарева, 2013). Показана сезонная динамика Хлазной активности у кустарников рода *Prunus*, причем активность Хлазы отрицательно коррелировала с количеством Хл *a* в листьях (Sytykiewicz et al., 2013). Часть результатов настоящей работы согласуются с этим выводом. Так, наибольшая активность Хлазы была зарегистрирована у молодых листьев клена, суммарное содержание Хл в которых составляло всего  $4,56 \pm 0,33$  мг/г сухой массы, а самая низкая активность Хлазы отмечена у копытня, содержание Хл в котором варьировало от  $12,28 \pm 0,61$  до  $15,72 \pm 0,78$  мг/г сухой массы. В целом же данные нашего исследования не позволяют говорить о четкой связи между уровнем Хлазной активности и количеством Хл в листьях. Отсутствие однозначной корреляции между Хлазной активностью отмечено также в работах (Todorov et al., 2003; Ben-Yaakov et al., 2006). По мнению авторов, это свидетельствует о том, что в разложении Хл наряду с Хлазой принимают участие и другие ферменты.

Таким образом, результаты настоящей работы позволяют полагать, что Хлаза играет важную роль в адапционных процессах различных видов растений в условиях различного светового режима (Фомішина та ін., 2009; Gupta et al., 2011; Sytykiewicz et al., 2013). Высокая активность Хлазы у большинства исследуемых

дуюмих рослин, займаючих середній і верхній ярус лесного ценоза, свідечує про активну участь фермента в метаболізмі Хл і її ролі в адаптації к різним світловим режимам.

## ЛИТЕРАТУРА

- Бухов Н.Г. Динамическая световая регуляция фотосинтеза // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, №6. – С. 825-837.
- Дідух Я.П., Єрмоленко В.М., Крижанівська О.Т., Попович С.Ю., Серебряков В.В., Ткаченко В.С., Гелюта В.П., Парчук Г.В., Родіна В.В., Фіцайло Т.В. Екологічна стежка (методика, організація, характеристика модельної стежки «Лісники»). – К.: Фітосоціоцентр, 2000. – 88 с.
- Довбиш К.П., Васильченко С.М., Сиваш О.О., Топчий Н.М. Фотосинтетичні характеристики кленів *Acer platanoides* Z., *A. campestre* Z., *A. tataricum* Z. у природних умовах за різних світлових режимів // Укр. ботан. журн. – 2006. – Т. 63, № 3. – С. 411-421
- Сиваш А.А., Золотарева Е.К. Катаболизм хлорофилла в растениях // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2013. – Вип. 3 (30). – С. 6-17.
- Сиваш О.О., Михайленко Н.Ф., Золотарева О.К. Цукри як ключова ланка в регуляції метаболізму фотосинтезуючих клітин // Укр. ботан. журн. – 2001. – Т. 58, № 1. – С. 121-127.
- Степанов С.С., Золотарева О.К. Метаболічний шлях метанолу у рослин // Укр. біохім. журн. – 2011. – Т. 83, № 4. – С. 5-15.
- Судьїна О.Г., Довбиш К.П., Фомішина Р.М., Донцова І.Г. Мембранна регуляція хлорофілазної активності в листі тютюну // Укр. ботан. журн. – 1988. – Т. 45, № 2. – С. 48-51.
- Фомішина Р.М., Сиваш О.О., Захарова Т.О., Золотарева О.К. Роль хлорофілази в адаптації рослин до умов освітлення // Укр. ботан. журн. – 2009. – Т. 66, № 1. – С. 94-102.
- Anten N.P.R. Optimal photosynthetic characteristics of individual plants in vegetation stands and implications for species coexistence // Ann. Bot. – 2005. – V. 95. – P. 495-506.
- Arkus K.A.J., Cahoon E.B., Jez J.M. Mechanistic analysis of wheat chlorophyllase // Arch. Biochem. Biophys. – 2005. – V. 438. – P. 146-155.
- Banas A.K., Jabuz J., Sztatelman O., Gabrys H., Fiedor L. Expression of enzymes involved in chlorophyll catabolism in Arabidopsis is light controlled // Plant Physiol. – 2011. – V. 157. – P. 1497-1504.
- Bailey S., Horton P., Walters R.G. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the relationship between photosynthetic function and chloroplast composition // Planta. – 2004. – V. 218. – P. 793-802.
- Ben-Yaakov E., Harpaz-Saad S., Galili D., Eyal Y., Goldschmidt E. The relationship between chlorophyllase activity and chlorophyll degradation during the course of leaf senescence in various plant species // Isr. J. Plant Sci. – 2006. – V. 54. – P. 129-135.
- Brouwer B., Gardeström P., Keech O. In response to partial plant shading, the lack of phytochrome A does not directly induce leaf senescence but alters the fine-tuning of chlorophyll biosynthesis // J. Exp. Bot. – 2014. – V. 65. – P. 4037-4049.
- Gupta S., Gupta S. M., Kumar N. Role of chlorophyllase in chlorophyll homeostasis and post-harvest breakdown in *Piper betle* L. leaf // Indian J. Biochem Biophys. – 2011. – V.48, №5. – P. 353-360.
- Havaux M., Ponfils J.P., Lutz C., Nijgoi K.K. Photo-damage of the photosynthetic apparatus and its dependence on the leaf developmental stage in the *npq1* Arabidopsis mutants deficient in the xanthophyll cycle enzyme violaxanthin de-epoxidase // Plant Physiol. – 2000. – V. 124. – P. 272-284.
- Hikosaka K. Leaf canopy as a dynamic system: eco-physiology and optimality in leaf turnover // Ann. Bot. – 2005. – V. 95. – P. 521-533.
- Leong T.Y., Anderson J.M. Adaptation of the thylakoid membranes of pea chloroplast to light intensities. I. Study on the distribution of chlorophyll– protein complexes // Photosynth. Res. – 1984. – V. 5. – P. 105-115.
- Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology / Eds. L. Pascker and R. Douce. – 1987. – V. 148. – P. 350-382.
- Lichtenthaler H. K., Ab A., Marek M. V., Kalina, J., Urban O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species // Plant Physiol. Biochem. – 2007. – V. 45. – P. 577-588.
- Meir P., Kruijt B., Broadmeadow M., Barbosa, E., Kull O., Carswell F., Nobre A., Jarvis P.G. Acclimation of photosynthetic capacity to irradiance in tree canopies in relation to leaf nitrogen concentration and leaf mass per unit area // Plant Cell Environ. – 2002. – V. 25. – P. 343-357.
- Murchie E.H., Horton P. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: Chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference // Plant Cell Environ. – 1997. – V. 20. – P. 438-448.
- Mykhaylenko N.F., Syvash O.O., Tupik N.D., Zolotareva O.K. Exogenous hexoses cause quantitative changes of pigment and glycerolipid composition in filamentous cyanobacteria // Photosynthetica. – 2004. – V. 42, №1. – P. 105-110.
- Niinemets M., Valladares F. Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: optimality and constraints. // Plant Biol. – 2004. – V. 6. – P. 254-268.

## ХЛОРОФИЛЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ

- Niinemet U. Photosynthesis and resource distribution through plant canopies // *Plant Cell Environ.* – 2007. – V. 30. – P. 1052-1071.
- Oguchi R., Hikosaka K., Hirose T. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees // *Plant Cell Environ.* – 2005. – V. 8. – P. 916-927.
- Stepanov S.S., Zolotareva E.K. The effect of methanol on photosynthetic activity and productivity of *Chlamydomonas reinhardtii* dang. (Chlorophyta) // *Int. J. Algae.* – 2011. – V. 21, № 2. – P. 178-190.
- Sytykiewicz H., Sprawka I., Czerniewicz P., Sempruch C., Leszczycski B., Sikora M. Biochemical characterisation of chlorophyllase from leaves of selected *Prunus* species – A comparative study // *Acta Biochim. Polon.* – 2013. – V. 60, № 3. – P. 457-465.
- Todorov D.T., Karanov E.N., Smith A.R., Hall M.A. Chlorophyllase activity and chlorophyll content in wild and mutant *Arabidopsis thaliana* // *Biol. Plant.* – 2003. – V. 46. – P. 125-127.
- Topchiy N.M., Sytnik S.K., Syvash O.O., Zolotareva O.K. The effect of additional red irradiation on the photosynthetic apparatus of *Pisum sativum* // *Photosynthetica.* – 2005. – V. 43. – P. 451-456.
- de la Torre W.R., Burkey K.O. Acclimation of barley to changes in light intensity: photosynthetic electron transport activity and components // *Photosynth. Res.* – 1991. – V. 24. – P. 127-136.
- Valladares F. Light heterogeneity and plants: from eco-physiology to species coexistence and biodiversity // *Progress in Botany.* – Springer Berlin Heidelberg, 2003. – P. 439-471.

Поступила в редакцию  
06.03.2016 г.

## CHLOROPHYLLASE ACTIVITY AND PIGMENT COMPOSITION IN LEAVES OF FOREST PLANTS OF DIFFERENT LAYERS OF BROAD-LEAVED FOREST

O. O. Syvash, R. N. Fomishyna, T. O. Zakharova, E. K. Zolotareva

*N.G. Kholodny Institute of Botany of  
National Academy of Sciences of Ukraine  
(Kyiv, Ukraine)  
e-mail: membrana@ukr.net*

The pigment composition and chlorophyllase (Chlase, chlorophyll-chlorophyllide-hydrolase, EC 3.1.1.14), activity in leaves of a broad-leaved forest plants including the following 1) shade-tolerant plant species: ground elder (*Aegopodium podagraria* L.), angular solomon's-seal (*Polygonatum odoratum* L.), solomon's-seal (*Polygonatum multiflorum* L. All.) and wild ginger (*Asarum europaeum* L.) grown at lower level of broad-leaved forest; 2) the shrub layer: wart-stem shrub (*Euonymus verrucosus* Scop.), spindle tree (*Euonymus europaeus* L.), bird cherry (*Prunus padus* L.) and common hazel plant (*Corylus avellana* L.); and 3) the upper layer: the light-demanding maple (*Acer campestre* L.), were researched. The data confirm the general trend of increasing the Chl *b* content in plants in response to the reduction of available light and show that Chlase activity plays an important role in the adaptation process, depending on the plant species. High activity of Chlase in the main part of species that occupy middle and upper layer of the forest cenosis, indicates an active role of the enzyme in the metabolism of chlorophyll and its participation in adaptation to different light regimes. At the same time, the Chlase activity of some plants of lower forest layer remained low during the growing season, indicating a low catabolism dynamic in these types of shade plants.

**Key words:** *chlorophyll, chlorophyllase, carotenoids, light-demanding plants, shade-tolerant plants, photosynthesis*

**СИВАШ и др.**

## **ХЛОРОФІЛАЗНА АКТИВНІСТЬ І ПІГМЕНТНИЙ СКЛАД ЛИСТКІВ РОСЛИН РІЗНИХ ЯРУСІВ ШИРОКОЛИСТЯНОГО ЛІСУ**

О. О. Сиваш, Р. Н. Фомішина, Т. О. Захарова, О. К. Золотарьова

*Інститут ботаніки ім. Н.Г. Холодного  
Національної академії наук України  
(Київ, Україна)  
e-mail: membrana@ukr.net*

Вивчали активність хлорофілази (Хлази, хлорофіл – хлорофілід – гідролаза 3.1.1.14), вміст пігментів та їх співвідношення у лісових рослин, які росли в природних умовах широколистяного лісу. Як об'єкти досліджень рослин нижнього ярусу, що зростали під пологом лісу, були вибрані: яглиця звичайна (*Aegopodium podagraria* L.), купина запашна (*Polygonatum odoratum* L.), купина багатоквіткова (*Polygonatum multiflorum* L. All.) и копитень (*Asarum europaeum* L.). Вивчали також наступні види чагарників: бруслина бородавчаста (*Euonymus verrucosa* Scop), бруслина європейська (*Euonymus europaea* L.), черемха звичайна (*Padus avium* Mill) і ліщина звичайна (*Corylus avellana* L.). Для порівняння означені параметри визначалися також у рослини верхнього ярусу – світлолюбного виду клена польового (*Acer campestre* L.). Отримані дані підтверджують загальну тенденцію підвищення вмісту Хл *b* у відповідь на зниження доступного для рослин світла і показують, що Хлазна активність відіграє важливу роль в адаптаційних процесах в залежності від виду рослин. Висока активність Хлази у більшості досліджуваних видів, що зростають у середньому і верхньому ярусах лісового ценозу, підтверджує активну участь ензиму в метаболізмі хлорофілу і її ролі в адаптації до різних світлових режимів. У той же час у деяких рослин нижнього ярусу Хлазна активність залишалася невисокою протягом вегетації, що свідчить про низьку динаміку катаболізму Хл у цих видів в умовах високого затінювання.

**Ключові слова:** *хлорофіл, хлорофілаза, каротиноїди, світлолюбні рослини, тіньовитривалі рослини, фотосинтез*